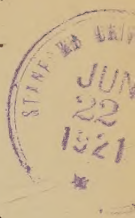
Aus dem Tierpathologischen Institut der Universität München.
Vorstand: Professor Dr. KITT.



Untersuchungen über das Vorkommen von Sporen pathogener rauschbrandähnlicher Bazillen im Darmkanal des Rindes.

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

:: Erlangung ::

der

veterinär-medizinischen Doktorwürde

der

Tierärztlichen Fakultät

der

Universität München.

Vorgelegt von

BERTOLD GAMPP

approb. Tierarzt

aus FREIBURG i. BR.

FREIBURG i. BR.
Adolf Kuenzer
Buch- und Kunstdruckerei
1919.

Gedruckt mit Genehmigung der
Tierärztlichen Fakultät der Universität München
:: den 2. August 1919. ::

Referent: Herr Prof. Dr. KITT.

:: Meinem ::
lieben Vater
aus Dankbarkeit
gewidmet.

Bei der Häufigkeit des Vorkommens anaerober pathogener Bakterien im Heustaub (Koch), Garten- und Ackererde (Gaffky), Marktmilch, Dünger (v. Hibler) usw. ist anzunehmen, daß durch die Futter- und Trinkwasseraufnahme eine große Anzahl dieser Keime in den Verdauungskanal der Rinder gelangt. Die Vermutung, pathogene Anaerobier als regelmäßigen oder doch öfteren Befund bei Untersuchungen der Fäzes zu finden, liegt daher sehr nahe. So nehmen Hutyra und Marek, Kitt, Ostertag, v. Werdt auch an, daß der Darm die Bazillen oder Sporen des Rauschbrandes, Malignen Oedems und Gasbrandes sehr häufig beherbergt. Die bisherigen Untersuchungen ergaben nun aber keineswegs eine Bestätigung dieser Annahme, ist doch schon die ständige Anwesenheit von Anaerobiern überhaupt sehr zweifelhaft. Heinick hatte z. B. mit der Züchtung aus dem Schweinedarm keinen Erfolg; Hammerl untersuchte die Fäzes verschiedener Tiergattungen mit negativem Ergebnis, ebenso Bienstock, der außerdem an sich selbst experimentierte (B. aß 3 Wochen lang mit Bac. putrificus beimpfte Erde). Küthe konnte im Kälberdarm anaerobe Bakterien nicht finden. Anderseits züchtete Rodella aus dem Säuglingsstuhle drei strenge Anaerobier; Klein fand den Bac. sporogenes in Fäzes an Enteritis erkrankter Menschen und hat ihn später im normalen Dickdarminhalt nachgewiesen. Flügge stellte fortgesetzt anaerobe

Bakterien im Darmkanal der Pflanzenfresser fest. Ankersmith züchtete aus dem Blinddarm eines Kalbes einen anaeroben Spaltpilz, Neubauer fand einen obligaten Anaerobier im Rinderdarm, ebenso Fischer.

Aus diesen Untersuchungen geht hervor, daß Anaerobier sich wohl mitunter in den Fäzes finden, nicht aber als regelmäßige Darmbewohner gelten können.

Anaerobe Bakterien, namentlich solche des Malignen Oedems und ihnen morphologisch ähnliche, deren Herkunft aus dem Darme anzunehmen ist, bilden häufig postmortale Befunde an Tierleichen, die einige Zeit schon gelegen haben. Diese Erscheinung findet sich hauptsächlich nach rasch eingetretenem Erstickungstod, da das flüssig gebliebene Blut der Ausbreitung und Vermehrung der aus dem Darm auswandernden Bakterien Vorschub leistet. So fand Lewes (Zit. von Gaffky) im Blute erstickter Ratten, die einige Tage im Brutschrank gelegen hatten, Bazillen des Malignen Oedems. Auch nach Foth findet nach dem Tode des Tieres Auswanderung von Anaerobiern aus dem Darm in die Organe, das Blut und die Gewebesäfte statt, dasselbe beobachteten Léclainche et Vallée regelmäßig bei länger liegenden Rauschbrandkadavern; Titze und Weichel bei in Fäulnis übergegangenen Kadavern von Bradsot-Schafen. Auch aus dem Fleische notgeschlachteter Tiere, züchtete Lellek fünf rauschbrandähnliche Anaerobier, die nicht die Ursache der Erkrankung waren, ihren Weg vielmehr aus dem Darme genommen hatten.

Als Beweise für die Anwesenheit von pathogenen Anaerobiern im Darm, sprechen auch die am lebenden Körper gemachten Erfahrungen. v. Hibler züchtete den Stamm 7 des Fraenkel'schen Bazillus aus einer Peritonealnaht, Stamm 13 aus dem Peritonealexsudat eines an Magenfistel Erkrankten, Stamm 15 aus dem Peritonealexsudat bei Typhus abdominalis und nimmt Infektion vom Darme aus an. Ghon und Mucha beschreiben eine Infektion des Wurmfortsatzes durch anaerobe Bakterien.

In der tierärztlichen Praxis sind die Fälle, in denen intestinale Anaerobeninfektion mit Bestimmtheit anzunehmen

ist, gerade nicht selten. So spricht, nach Hutyra und Marek, der Umstand, daß in Rauschbrandgegenden der Darmkanal in der Regel Rauschbrandbazillen enthält, andererseits aber Verletzungen auf der Körperoberfläche der Kranken nur ausnahmsweise nachgewiesen werden können, sowie auch das nicht selten gehäufte Auftreten von Erkrankungen auf einer Weide oder in einem Stalle, und das Vorkommen von knisternden Geschwülsten an den innern Organen, für die Häufigkeit der vom Darme aus stattfindenden Infektion. Eine weitere, meist nur wenig beobachtete Erkrankung, die hauptsächlich bei Kälbern und Schweinen beobachtet wurde, ist der Quetschungsbrand der Baucheingeweide, der bakteriologisch dem Malignen Oedem oder Gasbrand nahesteht. Nach Kitt ist dessen Vorliegen zu vermuten, wenn bei notgeschlachteten oder verendeten Tieren (ohne daß eine Lageänderung und Stauungsfülle besteht) die Gedärme blutrot verfärbt, der Darminhalt blutgemischt, die Schleimhaut hämorrhagisch infiltriert und verschorft, die Darmlymphdrüsen geschwollen, dunkelrot und jeweils gasknisternd erscheinen, dazu blutigseröse Flüssigkeitsansammlung in der Bauchhöhle, im Herzbeutel und in der Brusthöhle bestehen. Als Ursache der Quetschungen kommt vor allem die häufig rohe Behandlung der Tiere beim Transport durch Stockschläge, Fußtritte, dann Sturz und das Zusammenpferchen in Betracht. Kitt beschreibt einen von ihm beobachteten Fall bei einer Ziege, die von ihrer Nachbarziege durch Trampeln auf dem Bauche mit den Vorderfüßen gequetscht wurde, unter schweren Darmschmerzen erkrankte und notgeschlachtet werden mußte. Die Zerlegung ergab das oben beschriebene pathologische Bild; mikroskopisch fanden sich rauschbrandähnliche Bazillen (Bac. cosiformis).

Weiterhin ist beim sogenannten Geburtsrauschbrand, der zumeist, wie die Untersuchungen von Carl und Markoff ergaben, durch Erreger des Malignen Oedems und seinen Varietäten, ausnahmsweise auch durch die des echten Rauschbrandes (zwei Fälle von Foth und Markoff), hervorgerufen wird, die Möglichkeit der Infektion durch den Darminhalt vorhanden. Es können nämlich durch den Afterkot

die pathogenen Keime in die Vagina gelangen, wo sie in den bei der Geburt und der Geburtshilfe entstehenden Verletzungen oder Quetschungen eine günstige Eintrittspforte und einen für die Ausbreitung geeigneten Nährboden antreffen. Kitt hat einen solchen Fall verzeichnet bei einer Stute, welche einen kleinen Riß am Wurfe hatte und von hier aus ein tötliches Malignes Oedem dadurch entstand, daß vom After Kotpartikel über die Schamteile herabfielen, die Wunde dadurch mit den in den Darmausleerungen vorhandenen Keimen der Oedembazillen infizierten.

Diese Tatsache, der vom Darm ausgehenden Infektionsmöglichkeit durch pathogene Anaerobier, läßt die Folgerung zu, daß besonders beim für den Rauschbrand und rauschbrandähnliche Erkrankungen empfänglichen Rinde, diese Bakterien im Darminhalt sich vorfinden müssen. Neubauer, der die Darmflora von 30 Rindern speziell auf Anaerobier untersuchte, kam zu dem Resultat, daß Anaerobier selten im Darme vorhanden sind, Bazillen des Malignen Oedems konnte er überhaupt nicht nachweisen. Fischer gelang es nicht, aus dem Kote von 105 Ochsen, darunter 85 Kälber, einen obligaten Anaerobier wie Bazillen des Malignen Oedems zu isolieren; desgleichen hatten Küthe bei den Untersuchungen des Kälberdarms und Buemann des Colons des Rindes keinen Erfolg. Diese negativen Befunde bestätigen also keineswegs die obige Annahme. Durch weitere Untersuchungen Beiträge zu der Frage der Anwesenheit pathogener, rauschbrandähnlicher Anaerobier im Darme zu liefern, war deshalb der Anlaß zu dieser Arbeit.

Über Technik des Untersuchungsganges.

Bei den bisherigen Untersuchungen des Darminhaltes des Rindes wurde das Ausgangsmaterial zumeist direkt auf den Nährboden gebracht, dem Brutschrank aerob oder anaerob übergeben, und die entstandenen Kolonien auf ihre Artzugehörigkeit geprüft. Neubauer, der ausschließlich Anaerobier feststellen wollte, goß mit dem

Ausgangsmaterial in Verdünnung Traubenzuckeragarplatten, überließ dieselben in dem Botkinschen Apparat dem Wachstum, untersuchte hierauf von jeder Platte 10 der entstandenen Kolonien durch Abimpfungen in Kulturmedien. Buemann glaubt, daß pathogene Mikroorganismen im Darminhalt kaum in anderer Weise als durch umfassende Impfversuche zuverlässig nachzuweisen sind.

Bei meinen Versuchen vereinfachte sich der Untersuchungsgang insofern, als für mich nur Sporen der Anaerobier in Betracht kamen, sämtliche vegetativen Bakterienformen also durch Erhitzung des Materials ausgeschieden werden konnten. Nun brachten mich meine Vorversuche zu der Überzeugung, daß sowohl die direkte Aussaat des Materials auf Nährböden, wie auch die direkte Verimpfung auf Versuchstiere höchst wahrscheinlich nicht den gewünschten Erfolg haben kann, denn erfahrungsgemäß werden anaerobe Sporen oder Bakterien nur sehr vereinzelt vorkommen, die dann bei der Aussaat auf Platten manchmal nicht wachsen (Zeissler fand einen Stamm Malignes Oedem, der auf der Blutplatte nicht wuchs) oder durch andere Bakterien überwuchert werden können, andererseits im Falle der Verimpfung wegen zu geringer Virulenz oder auch durch Wirkung der Phagozytose nicht pathogen, sondern höchstens immunisierend wirken. Diese Erwägungen führten mich dazu, bei meinen Versuchen eine Methode anzuwenden, die als Zweck hat, zuerst eine Anreicherung etwaiger im Untersuchungsmaterial befindlicher anaerober Keime in einem besonders geeigneten Nährboden vorzunehmen. Heim und Knorr wenden eine Anreicherungsmethode zur Reinzüchtung von Gasbrandbazillen und zwar in Leber-Leberbouillon an. Plaut empfiehlt diese Methode zur Erlangung von Reinkulturen aus verunreinigtem Material auch für die maligne Oedembazillengruppe und Tetanusbazillen, letztere unter Zuhilfenahme des Erhitzungsver-

fahrens, zu gebrauchen. Fraenkel hält ebenso dieses Verfahren für notwendig, falls sich nur spärliche Keime in dem zu untersuchenden Material finden. Ich wählte als Anreicherungsnährboden Traubenzucker-Blutbouillon nach Kitt, die für Rauschbrand- und Oedembazillen äußerst günstige Wachstumsbedingungen bietet, außerdem den Vorteil hat, daß eine anaerobe Behandlung der Kultur nicht unbedingt erforderlich ist. Trotzdem benützte ich das anaerobe Züchtungsverfahren im Buchnerschen Rohr, um von vornherein Beimischungen aerober Bakterien möglichst auszuschalten. Nach 24stündigem Aufenthalt im Brutschrank ist das Wachstum der Kulturen gewöhnlich so weit fortgeschritten, daß sie zu weiteren Untersuchungen verwendet werden können. Meist bieten die Veränderungen im Aussehen der Kultur (Farbe, Gasbildung), sowie das mikroskopische Bild schon gewisse Anhaltspunkte der Artzugehörigkeit der Keime; die mit rauschbrandähnlichen Befunden wurden ausgewählt. Zwecks Prüfung der Pathogenität wurden dann zwei Meerschweinchen mit je 0,5 ccm der Blutbouillonkultur subkutan am Bauche geimpft.

Zur Darstellung von Reinkulturen verwendete ich das von Zeissler eingeführte Verfahren der Züchtung von Anaeroben auf der Menschenblut-Traubenzucker-Agarplatte im Maassenschen Apparat, welches hauptsächlich zur Feststellung von Gasbrandbazillen angewendet wird. Die Fraenkelschen Gasbrandbazillen gedeihen auf diesem Nährboden am besten, doch kommen auch die Aussaaten von Rauschbrand- und Malignen Oedembazillen zu guter Entwicklung (Zeissler konnte, wie schon oben erwähnt, bisher nur einen Stamm von Malignen Oedem nicht zum Wachstum bringen). Diese Methode gewinnt vor allem gleichzeitig auch für die Differentialdiagnose große Bedeutung, da die verschiedenen Anaerobengruppen jede ihre konstante Wuchsform aufweist, so der Fraenkelsche Gasbrandbazillus, Bac. putrificus Bienstock, der Rauschbrandbazillus und die verschiedenen Arten des

Malignen Oedems. Diese Erscheinung hält Zeissler auch für den Beweis der Artverschiedenheit der Gasbrand- und Malignen Oedembazillen; da nicht einmal die verschiedenen, einander viel näher als dem Fraenkelschen Bazillus stehenden Kolonien der Bazillen des Malignen Oedems als artgleich angesehen werden können. Das Aussehen der von Zeissler gefundenen Wuchsformen auf der Blutplatte soll nachstehend kurz beschrieben werden:

Die Kolonien des Fraenkelschen Bazillus sind von kreisrunder Gestalt mit einem Durchmesser von 1 bis 3 mm. Die Höhe der Kolonien beträgt 0,5 bis 1 mm, das Zentrum ist meistens erhöht. Die Farbe ist anfangs fraisefarben und geht nach einiger Zeit über lehmbraun, graugrün in olivgrün bis resedagrün über. Durch diese Färbung sind die Kolonien leicht als solche des Fraenkelschen Bazillus erkennbar. Die Wuchsform I des Malignen Oedems zeigt Kolonien von kreisrunder bis ovaler Form, von 1 bis 2 mm Durchmesser und 0,5 mm Höhe. Die Farbe ist ein (bisweilen) zartes Grau, der Hof goldgelb bis gelbbraun und durchsichtig. Der Grad der Haemolyse ist vom Feuchtigkeitsgehalt der Platte abhängig. Die II. Wuchsform hat Kolonien von runder bis wurzelförmiger Gestalt, mit einem Durchmesser der runden von 1 mm, die Breite der wurzelförmigen 1—1,5 mm, ihre Länge bis 5 mm. Auf feuchtem Nährboden können die wurzelförmigen Kolonien bis 15 mm lang werden. Die Farbe ist zartgrau, einen Hof haben sie nicht. Die III. Wuchsform (die für Rauschbrand typische) ist meist schleierartig. Es bilden sich nicht immer Einzelkolonien, sondern zumeist ein vom Impfstrich sich nach beiden Seiten ausbreitender, makroskopisch nicht gegliederter, annähernd kreisrunder oder ovaler Rasen von 5—20 mm Durchmesser. Eine Farbe nicht erkennbar, ein Hof wird nicht gebildet. Auf trockenen Platten kommt es zur Entwicklung von Einzelkolonien mit hellem haemolytischem Hof. Die Kolonien sind von weinblatt- oder seesternförmiger Gestalt, der Durchmesser beträgt 1—2 mm, sie sind farblos oder zartgrau gefärbt.

Der Nährboden besteht aus 80 % hochprozentigem Nähragar mit 2 % Traubenzuckerzusatz und 20 % Menschen-

blut. Am besten wählt man zur Aussaat Platten, die zunächst zwei Tage bei Zimmertemperatur gestanden haben. Das Impfmaterial wird entweder in Strichen von 1,5 cm Abstand auf die Platte gebracht oder durch Ausstreichen mit einem rechtwinkelig abgeknickten Glasstab auf der Platte verteilt. Die Platten werden in den Maassenschen Apparat gestellt, der mit Pyrogallol und Kalilauge (auf 5—6 Gramm Pyrogallol 100 ccm 50 % Kalilauge) vorerst beides noch getrennt, beschickt ist. Der Apparat wird dann ¼ bis ½ Stunde durch eine Wasserstrahl- oder Ölpumpe evakuiert. Es kann nun das Pyrogallol und die Kalilauge vereinigt werden.

Zur Herstellung der Blutplatten verwendete ich Pferdeblut, das nach Zeissler, ebenso wie Schafblut statt Menschenblut dem Agar zugesetzt werden kann. An Stelle des Maassenschen Apparates, der mir nicht zur Verfügung stand, gebrauchte ich den Anaerobenzüchtungsapparat nach Arnheim, welcher den gestellten Anforderungen auch genügte. Der Zylinder hatte nur einen Tubus. Das Pyrogallol wurde zusammen mit den Platten in den Zylinder gebracht, nach Schließung wurde der Apparat eine halbe Stunde mit der Wasserstrahlpumpe evakuiert und dann erst vorsichtig, die Saugkraft des luftverdünnten Raumes benützend, die Kalilauge zugelassen.

Untersuchungsgang.

Die zur Untersuchung gelangten Kotproben stammten aus dem Schlachthofe in München von frischgeschlachteten Rindern. Ich wählte zur Entnahme verschiedene Darmabschnitte, Dünndarm, Blinddarm, Dickdarm und Mastdarm. Der Darm wurde steril eröffnet, mit einem Spatel aus verschiedenen Teilen Kot entnommen und in ein steriles Reagenzglas gebracht. Der Inhalt wurde mit physiologischer Kochsalzlösung etwa zur Hälfte verdünnt, dann eine halbe Stunde im Schüttelapparat geschüttelt, hierauf filtrierte ich durch sterile Glaswolle, um gröbere Bestandteile zurückzuhalten, und erhitzte das Filtrat während einer halben Stunde bei 70 Grad im Wasserbade. Nach

der Erhitzung gab ich ungefähr 1 ccm des Filtrats in ein Traubenzucker-Blutbouillonröhrchen (diese waren vorher auf Sterilität geprüft worden), brachte dasselbe in das Buchnersche Rohr und überließ die Kultur dem Brutschrank. War nach 24 Stunden Wachstum in dem Nährboden eingetreten, besonders unter den für Rauschbrand- und Malignen Oedem typischen Erscheinungen der dunkelroten Verfärbung und Gasbildung, zeigte außerdem die mikroskopische Untersuchung rauschbrandähnliche Formen, so wurden 0,5 ccm der Kultur auf zwei ältere Meerschweinchen subkutan am Bauche verimpft. Vom Muskelsaft und Herzblut der eingegangenen Versuchstiere fertigte ich Ausstriche auf Pferdebluttraubenzuckeragarplatten an und behandelte dieselben nach der oben angegebenen Methode. Die entstandenen Kolonien konnten dann durch Abimpfung zur Herstellung von Reinkulturen verwendet werden.

Auf diese Weise untersuchte ich 50 Proben von 30 Rindern und zwar 13 Dünndarm-, 13 Dickdarm-, 6 Blinddarm-, 18 Mastdarmproben. Dabei ergab sich als Resultat, wie auch schon Neubauer, Fischer, Küthe, Buemann festgestellt hatten, daß strenge Anaerobier im Rinderdarm nicht sehr häufig sind; dagegen fand ich im Gegensatz zu den bisherigen Untersuchungsergebnissen in einer Kotprobe aus dem Dünndarm eines Jungrindes einen obligaten, pathogenen Anaerobier aus der Oedembazillengruppe. Die nähere Beschreibung bezüglich seines morphologischen und biologischen Verhaltens halte ich für angebracht. Als Bezeichnung gelte Stamm 39.

Stamm 39.

Der gefundene Bazillus ist ein schlankes, gerades Stäbchen mit abgerundeten Enden von wechselnder Größe, 0,5 bis 1 μ Breite und 3 bis 8 μ Länge. In 48stündiger Blutbouillonkultur finden sich einzelliegende Stäbchen so-

wohl wie Verbände bis zu 8 Stäbchen, außerdem Klostridienformen, die manchmal auch in Ketten zu 3 bis 6 angeordnet sind. Ferner sind sporentragende Stäbchen anzutreffen, die Sporen von kurzellipsoider Form, meist endständig, mitunter auch mehr gegen die Mitte gelagert. Ausstriche von Muskelsaft und Exsudat von Impftieren zeigen dieselben Bakterienformen wie in Kultur, außerdem Stäbchen, die entweder in der Mitte spindelig angeschwollen oder gegen das Ende kolbig oder pfeilspitzenähnlich verdickt sind. Abklatschpräparate von den Serosabelägen und der Leberoberfläche ergaben einzelne und paarige schlanke Stäbchen, etwas größer in der Form wie in Kultur, daneben aber hauptsächlich lange Verbände und verschlungene Fäden, die oft an den Enden kolbig aufgetrieben sind. Die Bakterien zeigen im hängenden Tropfen Eigenbewegungen; die Färbung der Geißeln nach Zettnow ergibt peritrische Begeißelung. Die Färbung geschieht am besten mit Karbolthionin, die Gramfärbung erweist sich als positiv. Der Bazillus ist streng anaerob, Versuche ihn aerob zu züchten schlugen fehl. Kulturen in Traubenzuckerblutbouillon zeigen innerhalb 24stündiger Bebrütung stürmisches Wachstum, die Bouillon wird dunkelbordeauxrot verfärbt, heftige Gasentwicklung, dadurch bedingtes starkes Schäumen, Geruch nach Buttersäure. In älteren Kulturen finden sich zahlreiche Sporen. In Gelatine bilden sich kleine kugelige Kolonien, die kleine Gasbläschen entstehen lassen und nach einiger Zeit die Gelatine verflüssigen. In Traubenzuckeragar in hoher Schicht tritt bei kräftigem Wachstum starke Gasentwicklung ein, die den Agar zerspellt und oft den Wattepfropf des Glases austreibt. Die Kolonien sind in der Form unregelmäßig gestaltete, zerschlissene Klümpchen. In Milchkulturen (Technik nach v. Hibler) tritt nach 48 Stunden Gerinnung ein. Das Kaseïn legt sich an eine Wand an und wird zum großen Teil peptonisiert. Die Gasbildung ist

nur geringgradig. Das mikroskopische Bild zeigt ziemlich gutes Wachstum der Bakterien, vor allem finden sich viele Sporen, Kulturen in Traubenzuckeragar mit Zusatz einer 1 ‰ Ferrosulfatlösung (Technik nach Foth) läßt eine allmähliche Schwarzfärbung des Nährbodens erkennen, als Zeichen der Schwefelwasserstoffentwicklung.

Auf der Pferdebluttraubenzuckeragarplatte entwickeln sich innerhalb 24 Stunden nach der Aussaat rundliche Kolonien, die meist nach allen Seiten zackige Ausläufer besitzen, sodaß ihr Aussehen Seesternformen annimmt. Der Durchmesser der Kolonien beträgt durchschnittlich 1 bis 2 mm, die Höhe 0,25 bis 0,5 mm. Die Farbe ist ein zartes Grau. Um die Kolonien bildet sich ein heller, gelber, haemolytischer Hof von 3 bis 5 mm Durchmesser. Geruch nach Buttersäure. Zur genaueren Untersuchung der Kolonien wurden neben Ausstrichen Abklatschpräparate angefertigt. Ein gut gereinigtes Deckgläschen wird über die zu untersuchende Kolonie gelegt und leicht angedrückt, dann senkrecht wieder abgehoben, wobei die Kolonie an dem Gläschen haften bleibt. Nach Fixierung und Färbung Untersuchung bei Vergrößerung. Mikroskopisch beobachtet man Einzelstäbchen wie auch Verbände und lange Fäden, teilweise mit den spindelförmigen Verdickungen. Vereinzelt sind auch mittel- und endständige Sporen zu sehen. Durch Abimpfung der Kolonien von der Blutplatte in Blutbouillon ist die Reinkultur des Stammes zu erzielen.

Zum Vergleiche der Wachstumsformen züchtete ich gleichzeitig verschiedene Anaerobenstämme unter denselben Bedingungen.

1. Stamm Rauschbrand. (Aus Rauschbrandfleisch für Impfstoffherstellung der Veterinärpolizeilichen Anstalt.) Der Stamm zeigte das für Rauschbrand typische, von Zeissler als Wuchsform III bezeichnete Wachstum, nämlich einen vom Impfstrich nach beiden Seiten sich ausbreitenden, sehr zarten,

makroskopisch nicht gegliederten, von einem glatten Rand begrenzten, ovalen Rasen mit einem Durchmesser von 5 bis 20 mm, der oft nur bei schrägauffallendem Licht sich von der Umgebung abhebt. Der Nährboden ist im Bereiche des Rasens ein wenig durchsichtiger als im unbewachsenen Teil der Platte. Außerdem fanden sich auch Einzelkolonien von zartgrauer Farbe, weinblattförmig gestaltet, mit 2 bis 3 mm Durchmesser. Makroskopisch sind in älteren Kolonien viele Blähformen und vereinzelt Sporen zu finden.

2. Stamm Quetschungsbrand (Bac. cosiformis Kitt). (Wachstum in Kultur rauschbrandähnlich, Serosabeläge zeigen lange Ketten und Fäden, pathogen für Meerschweinchen und weiße Mäuse.) Es entwickeln sich Kolonien von wurzelförmiger, moosartig verzweigter Gestalt; die einzelnen Zweige haben eine Breite von 0,5 bis 1,5 mm und werden bis 15 mm lang; die Farbe der Kolonien ist zartgrau, der Nährboden zeigt in der Umgebung leichte Haemolyse. Das Wachstum dieses Stammes entspricht also ungefähr der Wuchsform II nach Zeissler.

3. Stamm Geburtsrauschbrand von einer Ziege. (Wachstum in Kultur rauschbrandähnlich. Auf Serosabelägen Fadenbildung, pathogen für Meerschweinchen und Mäuse [nicht Kaninchen].) Die Kolonien dieses Stammes sind von kreisrunder Form, der Durchmesser beträgt 1 bis 2 mm, die Farbe ist blaugrau, um die Kolonien ist ein schwacher haemolytischer Hof von ungefähr 5 mm Durchmesser. Dieses Wachstum würde der Wuchsform I nach Zeissler entsprechen.

4. Stamm Huhn. Gezüchtet aus dem Dottersack eines Kückens, (breite, lange Stäbchen, pathogen für Mäuse). Auf dem Impfstrich bilden sich konfluierende Kolonien, die Einzelkolonien sind von kreisrunder oder auch ovaler Form mit einem Durchmesser von 1 bis 2 mm und haben eine bräunliche Farbe. Der Hof hat einen Durchmesser bis 8 mm, ist lehmfarben und undurchsichtig, ähnelt also auch der Wuchsform I.

Der Geruch der Kulturen sämtlicher vier Stämme ist der nach Buttersäure.

Der von mir gefundene Stamm 39 ist in Bezug auf Wachstum auf der Blutagarplatte mit keinem der vier Stämme zu identifizieren.

Impfungen.

Die Resultate der Impfungen zeigten die hochgradige Pathogenität des Stammes. Die am 23. April 1919 mit 0,5 ccm 24 stündiger Blutbouillonkultur geimpften Meerschweinchen Nr. 38 und 39 (Gewicht 470, 490 Gramm) gingen am 24. April 1919, 20 und 22 Stunden nach der Impfung ein. Sektionsbefund eine Stunde nach dem Tode: Von der Vorderbrust bis zwischen die Hinterschenkel zieht sich ein ungefähr 2 cm hohes Oedem hin. Die Haare über dem Oedem lassen sich leicht loslösen, die Haut ist durchnäßt und von blauroter Farbe. Das Unterhautzellgewebe ist stark serössulzig infiltriert und mit einzelnen kleinen Gasblasen durchsetzt. Es entleert sich ungefähr 4 ccm blutigseröses Exsudat. Die Muskulatur der Axillagegend, der Brust, des Bauches und der inneren Hinterschenkel ist dunkelrot. Das Bauchfell ist stark gerötet, in der Bauchhöhle findet sich 1 ccm rötliches Exsudat. Der Darm, die Leber und Milz, wie die übrigen Organe zeigen makroskopisch keine Veränderungen. Das Herzblut ist geronnen. Mikroskopisch: Im Muskelsaft Stäbchen, Klostridienformen und Sporenanlagen. Serosabeläge, Galle und Blut zeigen einzelne Stäbchen und Ketten.

Ein mit 0,5 ccm Muskelsaft vom Meerschweinchen 38 geimpftes Meerschweinchen ging in derselben Zeit und unter demselben Krankheitsbilde ein.

Am 6. Mai 1919 wurde Kaninchen Nr. 5 mit 0,5 ccm 24 stündiger Blutbouillonkultur geimpft. Der Tod trat nach 39 Stunden ein. Sektionsbefund kurz nach dem Tode: Von der Vorderbrust bis zwischen die Hinterschenkel findet sich eine, bis zu 3 cm hohe, ausgebreitete An-

schwellung, die beim Betasten knistert. Die Haare sind leicht ablösbar, die Haut etwas durchnäßt. Beim Durchschneiden der Haut entleert sich ungefähr 5 ccm kirschrotes Exsudat. Das Unterhautzellgewebe ist beträchtlich oedematös-sulzig verändert, vor allem tritt aber, mehr wie beim Meerschweinchen, die Gasdurchsetzung hervor. Die Muskulatur ist stellenweise dunkel gerötet, zeigt auch einzelne Haemorrhagien, doch sind die Veränderungen nicht so ausgeprägt wie beim Meerschweinchen. Das Peritoneum, ebenso das Netz, sind stark injiziert. An den Eingeweiden und Organen sind keine Veränderungen wahrzunehmen. In der Bauchhöhle findet sich kein Exsudat vor, dagegen in der Brusthöhle 2 ccm einer leichtgetrübten serösen Flüssigkeit. Das Herzblut ist geronnen. Mikroskopisch: Im Muskelsaft meist einzelne und paarige Stäbchen, Abklatsch von der Leberoberfläche zeigt lange Verbände mit oft kolbigverdicktem Ende. In dem Brusthöhlenexsudat waren die Bakterien auch nachzuweisen.

Am 12. Mai 1919 wurden zwei weiße Mäuse mit 0,1 ccm Kultur subkutan am Rücken geimpft. Die eine Maus verendete nach 17, die zweite nach 20 Stunden. Sektionsbefund: Von der Impfstelle nach beiden Bauchseiten geringgradige oedematöse Anschwellungen. Der Darm hochgradig injiziert, die Milz wesentlich vergrößert und von mürber Beschaffenheit. Mikroskopisch: Ausstriche von der Leber, Milz und Blut zeigen fast ausschließlich lange Fäden.

Vom Meerschweinchen 38 wurden die erkrankten Muskeln ausgeschnitten und im Brutschrank getrocknet. Von diesem getrockneten Material wurde nach 6 Wochen eine Emulsion hergestellt und 0,5 ccm an Meerschweinchen 117 verimpft. Das Tier starb nach 48 Stunden. Die Zerlegung ergab dasselbe Krankheitsbild, wie oben beschrieben.

Hinsichtlich der Virulenz der Blutbouillonkulturen wurde festgestellt, daß eine Dosis von 0,1 ccm Kultur

noch genügt, um ein Meerschweinchen tötlich zu infizieren. Geringere Dosen rufen höchstens eine vorübergehende leichte Anschwellung hervor.

Das Gewicht und Alter der Versuchstiere spielt in Bezug auf Empfänglichkeit für die tötliche Infektion keine Rolle.

Über die Artzugehörigkeit des gefundenen Bakteriums gibt das mikroskopische Bild, besonders auf den Serosabelägen, wie auch das kulturelle Verhalten schon wichtige Anhaltspunkte; dazu spricht die hochgradige Pathogenität für Versuchstiere, auch Kaninchen, und die Wuchsform auf der Blutagarplatte dafür, daß der Stamm dem Malignen Oedem zuzuteilen ist.

Fütterungsversuche.

Die in der Einleitung angeführten Beispiele intestinaler Infektion veranlaßten mich auch Versuche dahingehend zu machen, diese experimentell zu erzeugen. Fütterungsversuche mit infektiösem Material fallen meist negativ aus; in der Literatur sind nur wenige Fälle bekannt, in denen es gelang, durch Fütterung allein tödliche Erkrankungen herbeizuführen, so verzeichnen Bollinger und Arloing, Cornevin und Thomas je einen Fall nach Verfütterung von Rauschbrandfleisch, Kitt sah einen Fall bei einer Maus. Wie die Versuche von Menereul zeigten, der eine Alkoholfütterung vorausgehen ließ, wird aber durch gewisse Umstände die Infektion begünstigt; praktisch werden dies vor allem traumatische Läsionen des Darmes oder durch verschiedene Ursachen hervorgerufene Stauungszustände, die die Darmschleimhaut für die im Chymus vorhandenen Bakterien durchlässig machen, sein. Da die gewöhnlichen Fütterungsversuche mit infektiösem Fleisch des Stammes 39, wie zu erwarten war, auch ohne Erfolg blieben, so versuchte ich durch Schädigung

des Darmes unter gleichzeitiger Fütterung von verschiedenem infektiösem Material den Quetschungsbrand herbeizuführen.

Zu diesem Zwecke fütterte ich Meerschweinchen Nr. 51 und 52 während mehreren Tagen mit getrocknetem Rauschbrandfleisch, Meerschweinchen Nr. 53 mit getrocknetem Fleisch von Quetschungsbrand (Stamm Kitt) und Meerschweinchen 54 mit Fleisch, das von einem mit Stamm 39 infiziertem Versuchstiere stammte, und quetschte mit einer Kornzange durch die Bauchdecke den Dünndarm. In keinem Falle gelang es mir aber, die gewünschte Infektion zu erzeugen; Meerschweinchen 51 und 54 gingen wohl nach 2 Tagen ein, der Obduktionsbefund ergab als Todesursache ausgiebige Blutextravasate in die Bauchhöhle, bei den beiden Meerschweinchen fanden sich auch entzündliche Veränderungen im Magen und Darm, die für Quetschungsbrand charakteristischen Erscheinungen fehlten jedoch. In mikroskopischen Präparaten des Bauchhöhlenergusses waren Bakterien nicht festzustellen. Kulturen, die aus dem Dünndarminhalt angelegt wurden, zeigten keine für die verfütterten Keime typisches Wachstum.

Trotzdem die Versuche fehlschlugen, ist, wie die eingangserwähnten Fälle beweisen, dieser Infektionsmodus jedoch nicht ausgeschlossen; Vorbedingung ist nur das tatsächliche Vorhandensein der Keime im Darme.

Schlußsätze.

Für die Erscheinung, daß die durch die Nahrung sicherlich in großer Zahl aufgenommenen pathogenen Keime sich so selten im Darminhalt wiederfinden, wurden verschiedene Erklärungen gegeben. Bienstock, der sehr eingehende Versuche mit dem Bac. putrificus machte, schreibt die Vernichtung der Tätigkeit der normalen Darmbakterien als Antagonisten zu, während andererseits Schütz, der mit Vibrio Metschnikoff experimentierte, die Einwirkung einer bakteriziden Substanz zur Zerstörung annimmt. Neubauer glaubt, daß zweifellos sowohl die vegetativen- wie

Dauerformen der Anaeroben im Magen und Dünndarm des Rindes zu Grunde gehen, er läßt die Frage nach der Art der hierbei tätigen Substanz aber offen, betont auch, daß die Erfahrungen, die von Bienstock und Schütz an anderen Tieren gemacht sind, für das Rind nicht zuzutreffen brauchen, vielleicht auch die verschiedenen Bakterien von verschiedenen Substanzen zerstört werden, sodaß möglicher Weise Bienstock und Schütz recht haben. Buemann schreibt das Verschwinden der Anaerobier der Verdauung zu; er nimmt an, daß ein Teil durch den Magensaft, ein anderer durch den Darmsaft gelöst und dann resorbiert wird, während es einem Teil gelingt, wie auch einem Rest Futter, unverändert von der Verdauungsflüssigkeit den ganzen Darmtraktus zu durchwandern. Zu den Letzteren zählt er zunächst die Sporen, deren Resistenz jedoch großen Schwankungen unterworfen ist. B. hält die Zerstörung der Sporen des Malignen Oedems im Magen und Dünndarm, wie Neubauer annimmt, für unwahrscheinlich. Die Mißerfolge des Letzteren führt er vielmehr auf den Umstand zurück, daß seine Versuchstiere entweder garnicht oder nur vereinzelt solche Sporen beherbergten. B. könnte selbst keine pathogenen Keime im Colon des Rindes finden, nimmt dabei die Verdauung als Ursache der Beseitigung allfälliger Einwanderer an.

Ich neige der Ansicht zu, daß zwar schon im Magen und Dünndarm des Rindes der größte Teil der aufgenommen pathogenen Bakterien und Sporen zerstört wird, sei es nun durch die Einwirkung antagonistischer Bakterien, bakterizider Substanzen oder der Verdauung, immerhin es aber einem Teil besonders resistenter Sporen, gelingt, wahrscheinlich unter dem mechanischen Schutze von umgebenden, nicht verdauten Futterpartikeln, den Darm zu durchwandern. Treten Umstände ein, die die normalen Darmfunktionen unterbrechen, so ist die Möglichkeit einer Ein- und Durchwanderung der Bakterien in vermehrtem

Maße natürlich gegeben. Ein entsprechendes Beispiel wird von Jensen angeführt, der bei Schädigung der Darmwand durch Ruhr pathogene Wirkung von Kolibakterien beobachtete. Die Möglichkeit der Durchwanderung pathogener Bakterien durch den ganzen Darmkanal zeigten die Erfahrungen von Schütz. Gab er bei seinen Experimenten nämlich gleichzeitig mit dem Vibrio-Metschnikoff den Versuchshunden größere Dosen von Rizinusöl oder Kalomel, wodurch die normale Darmtätigkeit beeinträchtigt wurde, so konnte er in jedem Falle die Vibrionen in den flüssigen Fäzes wiederfinden.

Zusammenfassung
der
Untersuchungsergebnisse.

1. Sporen pathogener, rauschbrandähnlicher Anaerobier sind im Darmkanal des Rindes selten zu finden; die von vielen Autoren vermutungsweise ausgesprochene Häufigkeit des Vorkommens bestätigt sich demnach nicht.

2. Es wurde nur einmal ein bisher noch nicht beschriebener, pathogener Anaerobier der Malignen Oedembazillengruppe aus dem Dünndarm gezüchtet.

3. Zur Isolierung pathogener Anaerobier aus dem Darminhalt ist die Anreicherungsmethode verbunden mit der Tierimpfung und der Züchtung auf der Bluttraubenzuckeragarplatte zu empfehlen.

4. Das Verfahren der Züchtung von Anaerobiern auf der Bluttraubenzuckeragarplatte nach ZEISSLER bietet sowohl für die Gewinnung von Reinkulturen wie für die Differentialdiagnose wichtige Vorteile.

Schlußwort.

Zum Schlusse meiner Arbeit drängt es mich, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Kitt, sowohl für die Überweisung des Themas, wie für die freundliche Unterstützung während der Anfertigung der Arbeit, meinen herzlichsten Dank auszusprechen. Auch ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Direktor Dr. Ernst der Veterinärpolizeilichen Anstalt Schleissheim für die Überlassung eines Arbeitsplatzes und das meiner Arbeit jederzeit entgegengebrachte Interesse bestens zu danken.

Literatur.

Ankersmith, C. f. Bakt., Bd. 39, 40, 1905.

Arloing, Cornevin, Thomas, Le charbon symptomathique du boeuf, Paris 1889.

Bienstock, Du rôle des Bactéries de l'intestin. Ann. de l'Jnstitut Pasteur, 1900 I. XIV.

Bollinger, D. Zeitschrift f. Tiermedizin, 1875.

Buemann, Über aerobe Mikroorganismen im Psalter und Colon des Rindes. C. f. Bakt., Bd. 71, 1913.

Carl, D. tierärztl. Wochenschrift, 1895, Nr. 41—43.

—, Oedem bei Haustieren, Handbuch d. path. Mikroorg. Kolle und Wassermann, 1912.

Fischer, Untersuch. über die Darmflora beim gesunden Ochsen, C. f. Bakt., Bd. 77, 1916.

Flügge, Die Mikroorganismen, 1896.

Foth, Die Diagnose des Rauschbrandes, I. u. II. Abhandl. Zeitschrift für parasitäre Krankheiten und Hygiene der Haustiere. VI. Bd. 1909, VIII. Bd. 1910.

Fraenkel, Über die Reinzüchtung der Krankheitserreger des Malignen Oedems und Gasbrandes aus infizierten Wunden. Zeitschrift f. Bakt., Bd. 81.

— und Zeissler, Die Differenzierung pathog. Anaerobier. Münchener Medizinische Wochenschrift, 1919, Heft 2.

Gaffky, Experimentell erzeugte Septikämie. Mitteilung. des kais. Gesundheitsamtes, 1881.

Ghon und Mucha, Beiträge zur Kenntnis der anaeroben Bakterien des Menschen. C. f. Bakt., Bd. 69, 1909.

Hammerl, Zur Züchtung der Anaeroben. C. f. Bakt., Bd. 30, 31.

Heim und Knorr, Anaerobiotische Anreicherung zur Reinzüchtung des Gasbrandbazillus, Münchner Medizinische Wochenschrift, 1917, Nr. 38.

Heinick, Beiträge zur Kenntnis der Bakterienflora des Schweinedarms. Dissertation, Bern 1913.

v. Hibler, Untersuchungen über die pathogenen Anaeroben. 1908.

Hutyra und Marek, Handbuch der spez. Pathologie und Therapie. 1913.

Kitt, Rauschbrand. Handbuch d. path. Mikroorganismen. Kolle und Wassermann, 1903.

—, Bakterienkunde, 1908.

, Die Unterscheidung der Malignen Oedem- und Gasbrandkrankheiten in der tierärztlichen Praxis. Münchner tierärztliche Wochenschrift, 1918, Nr. 40—42.

Klein, Über einen anaeroben Darmbazillus. C.f. Bakt., Bd. 18.

Küthe, Über Bakterien im Kälberdarm. C. f. Bakt. Bd. 76, 1915.

Léclainche et Vallée, Ann. de l'Jnstitut Pasteur, 1900.

Lellek, Untersuchungen über 5 im Fleische notgeschlachteter Tiere gefundene Anaerobier. Dissertation, Berlin, 1910.

Markoff, Vergleichende bakteriol. und serol. Studien über Rauschbrand und Pseudorauschbrand. C. f. Bakt., Bd. 60.

Menereul, Gangrène gazeuse produite par le vibrion septique. Ann. de l'Jnstitut Pasteur, 1895.

Neubauer, Über anaerobe Bakterien im Rinderdarm. Dissertation, Bern, 1905.

Ostertag, Handbuch der Fleischbeschau 1915.

Plaut, Anaerobische Anreicherung zur Reinzüchtung des Gasbrandbazillus. Münchner Medizinische Wochenschrift, 1917. Nr. 42.

Rodella, Zeitschrift für Hygiene, Bd. 34.

Schütz, Bakteriol. experim. Beiträge zur Frage Gastrointestinaler Desinfektion. Berliner klinische Wochenschrift, 1900, Nr. 25.

Titze und Weichel, Beiträge zur Erforschung der Bradsot der Schafe. Arbeit aus dem kais. Gesundheitsamt, Bd. 36, 1910.

v. Werdt, Malignes Oedem, Handbuch der Mikroorg. Kolle und Wassermann, 1912.

Zeissler, Über die Reinzüchtung pathogener Anaerobier. Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten, Bd. 86.

—, Zur Züchtung des Bac. phlegm. emphysem. Deutsche Medizinische Wochenschrift, 1917, Nr. 28.

—, Über die Reinzüchtung pathogener Anaerobier. Deutsche Medizinische Wochenschrift 1917, Nr. 48.

—, Deutsche Medizinische Wochenschrift, 1917, Nr. 9.

Lebenslauf.

Ich, BERTOLD GAMPP, bin geboren am 18. 6. 91 in Freiburg im Breisgau als Sohn des Kaufmanns Franz Gampp. Nach Besuch der Volksschule trat ich 1901 in die Oberrealschule in Freiburg ein und wurde dort im Juli 1910 mit dem Zeugnis der Reife entlassen. Vom Wintersemester 1910/11 bis Sommersemester 1914 lag ich dem Studium der Veterinärmedizin an der Tierärztlichen Hochschule München ob, wo ich 1912 die naturwissenschaftliche Prüfung und Februar 1915 die Approbationsprüfung bestand. Bei Ausbruch des Krieges meldete ich mich als Kriegsfreiwilliger und war als Veterinär d. Res. bei einer Minenwerferkompagnie, später als Oberveterinär und Leiter eines Div.-Pferdelazarettes, vom 1. 9. 14 bis 24. 12. 18 ununterbrochen im Felde.

Am 1. 2. 19 begann ich mit der Ausarbeitung vorliegender Dissertation.